ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1961 N° 7

ESSAI DE CANCÉRISATION DU COBAYE PAR LE 2-ACÉTYL-AMINOFLUORÈNE

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Janvier 1961

DEVANT LA

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

PAR

BOTTINELLI (Jean-Pierre)

Né le 21 Août 1936, à AFFREVILLE (Alger)

JURY
- *Président* : M. FABRE (Jacques), Professeur à la Faculté de Médecine.
- *Assesseurs* : M. DARRASPEN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire.
- *Assesseurs* : M. LOMBARD, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire.

IMPRIMERIE OUVRIÈRE
6, Rue Bayard, 6
TOULOUSE

1961

ESSAI
DE CANCÉRISATION DU COBAYE
PAR LE
2-ACÉTYL-AMINOFLUORÈNE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548925_0022

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1961 N° 7

ESSAI DE CANCÉRISATION DU COBAYE PAR LE 2-ACÉTYL-AMINOFLUORÈNE

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Janvier 1961

DEVANT LA

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

PAR

BOTTINELLI (Jean-Pierre)

Né le 21 Août 1936, à AFFREVILLE (Alger)

JURY
- *Président* : M. FABRE (Jacques), Professeur à la Faculté de Médecine.
- *Assesseurs* : M. DARRASPEN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire.
- *Assesseurs* : M. LOMBARD, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire.

IMPRIMERIE OUVRIÈRE
6, Rue Bayard, 6
TOULOUSE

1961

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

PERSONNEL ENSEIGNANT

	MM.
DIRECTEUR	PONS.
PROFESSEUR HONORAIRE	LASSERRE.

PROFESSEURS

	MM.
Physique - Chimie Biologique Pharmacie - Toxicologie Hygiène du lait	GODFRAIN.
Anatomie descriptive - Extérieur Anatomie appliquée	BLIN.
Physiologie Pharmacodynamie - Thérapeutique	LE BARS.
Histologie - Embryologie Anatomie pathologique Inspection des viandes	LOMBARD
Zoologie appliquée - Botanique Parasitologie externe Parasitologie interne	BRIZARD.
Pathologie médicale des Equidés et Carnivores Législation vétérinaire	DARRASPEN.
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	TOURNUT.
Pathologie chirurgicale Technique chirurgicale	PUGET.
Pathologie de la Reproduction Obstétrique	BERTHELON.
Microbiologie - Immunologie Maladies Contagieuses Police sanitaire	SAURAT.
Ethnologie Hygiène Agronomie Alimentation Zootechnie générale Economie rurale	PONS.

CHEFS DE TRAVAUX

	MM.
Maladies Contagieuses	LAUTIE, Agrégé.
Zootechnie	FALIU, Agrégé.
Anatomie pathologique	GOULARD.
Pathologie Médicale - Législation Vétérinaire	LESCURE, Agrégé.
Pathologie Chirurgicale	CAZIEUX.
Pathologie de la Reproduction	ROYAL.
Chimie Biologique - Pharmacie	MILHAUD.

CHARGES D'ENSEIGNEMENT. — COURS COMPLEMENTAIRES

	MM.
Radiologie	AUVERGNAT.
Droit vétérinaire	LINON.
Botanique	MORQUER.
Pisciculture	SECONDAT.
Agronomie	BRISEBOIS.
Economie Rurale	MONTANÉ DE LA ROQUE

ASSISTANT

	M.
Pathologie Médicale du Bétail	LACAZE.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté, en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924).

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA MERE

A MON PERE

Qui ont su depuis toujours m'entourer d'une immense affection. Faible témoignage de reconnaissance pour tous les sacrifices que je leur ai imposés.

A MA FEMME

A qui je dédie ce travail. Avec mon profond amour.

A MA SŒUR

A MES BEAUX-PARENTS

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR FABRE

DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

DE TOULOUSE

Que nous remercions grandement d'avoir accepté la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR Ch. LOMBARD

DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Qui nous a pris bien jeune dans son laboratoire pour nous former, et nous entourer de sa grande bienveillance. Qu'il veuille bien accepter notre humble et reconnaissante gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR E. DARRASPEN

DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Qui a accepté si gentiment notre demande, après nous avoir longtemps prodigué ses conseils dans cette Ecole.

Hommages respectueux.

A MONSIEUR LE DOCTEUR GOULARD

CHEF DE TRAVAUX DE LA CHAIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
A L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Pour sa gentillesse toujours soutenue à notre égard. Toute notre gratitude.

A TOUS NOS MAITRES

DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE

DE TOULOUSE

AVANT-PROPOS

« Cent fois sur le métier remettez votre ouvrage ». Cette courte phrase a souvent résonné dans l'esprit du jeune expérimentateur que je suis, dérouté au départ par la découverte de recherches de plus en plus accaparantes et tellement intéressantes. Le choix d'un sujet n'est rien à côté des moments d'espoir puis de désespoir successifs du débutant. Qui, ayant expérimenté à notre âge, nous jettera la première pierre ?

Personne n'ignore la carcino-résistance du Cobaye, naturelle aussi bien qu'expérimentale, déjouant tous les artifices des chercheurs. Et pourtant c'est bien elle, avec une folle hardiesse, que nous avons « essayé » de vaincre chimiquement. Le titre de notre thèse témoigne de cet essai...

Pourquoi avoir choisi le 2-acétyl-aminofluorène ? Très simplement parce que ce corps dérive de l'aminofluorène qui entre dans la composition de certains insecticides répandus sur les fruits et les végétaux. Or, notre époque voit de plus en plus apparaître, dans nos aliments, des produits synthétiques, non toxiques peut-être en une seule fois, mais qui se révèlent cancérigènes à la longue.

Notre Maître, M. le Professeur LOMBARD, après nous avoir inspiré ce thème, nous a heureusement prodigué de nombreux conseils grâce à sa très grande expérience en matière de cancérologie et nous a grandement facilité la

tâche en nous apportant toute l'aide matérielle et psychologique en son pouvoir. Nous remercions aussi M. le Docteur GOULARD, qui a toujours fait preuve, à notre égard, de la plus grande gentillesse. De son côté, M. le Professeur SAURAT a bien voulu mettre son service à notre entière disposition pour mener à bien nos essais. Enfin, toute notre reconnaissance va également aux autres personnes du Laboratoire d'Anatomie Pathologique, qui nous ont aidé dans la réalisation de nos expériences, bien que leur nom reste timidement dans l'ombre.

Après avoir esquissé brièvement l'historique du corps choisi, indiqué ses diverses propriétés physiques, chimiques, cancérigènes et son métabolisme, nous insisterons, dans une troisième partie, sur nos expériences propres, en essayant d'en interpréter les résultats avec une humble réserve.

PREMIERE PARTIE

HISTORIQUE

Le 2-acétyl-aminofluorène, ou N-2-fluorénylacétamide (ou 2-AAF, ou 2-FAA), a la faculté de causer des néoplasies dans différents tissus, ce qui a éveillé la curiosité de nombreux chercheurs. Pourtant, son activité cancérigène fut découverte, il y a relativement peu de temps, et inopinément.

En effet, à l'origine, le 2-AAF était un insecticide pour larves de moustiques. Son pouvoir toxique, essayé sur les souris et les lapins, s'était révélé assez faible. De longues expériences établirent que tout était fonction de la concentration, et révélèrent la toxicité du composé.

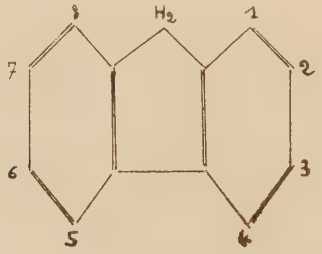
A l'autopsie des rats ayant vécu plus de cent jours, on nota des foies grossis et nodulaires, mais surtout des tumeurs sur différents tissus. Du jour au lendemain, le 2-AAF entra dans la liste noire des cancérigènes. Quelques aspects du problème commençaient à apparaître et, pour certains, faisaient entrevoir le mécanisme intime du cancer.

Ce furent WILSON et ses collaborateurs, en 1941, qui s'occupèrent les premiers de cette question, et l'on peut dire que c'est grâce à eux que l'ère du 2-AAF commença vraiment.

ORIGINE

PRODUCTION DU FLUORENE PUIS DU 2-AAF

Le fluorène a été isolé d'un goudron de houille ; sa formule, qui est symétrique, comprend deux noyaux phényl avec un pont méthylène disposés d'après le schéma suivant :



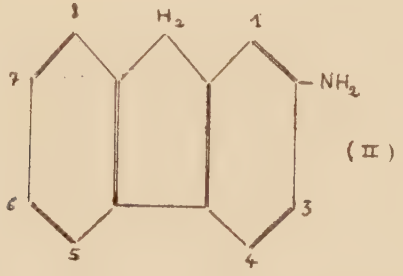
(I)

Plus tard, grâce aux méthodes de plus en plus précises en chimie, on lui a reconnu une structure plane, benzénique plutôt que naphtalénique, dans laquelle les doubles liaisons ne sont pas fixées. Certains pensent que c'est la position 2 qui a la charge la plus élevée, d'autres donnent la préférence aux positions 1 et 4.

A partir de ce corps, on a obtenu synthétiquement de nombreux dérivés par nitration, oxydation, etc... et aux différentes positions du noyau.

Dans le cas plus précis qui nous intéresse, nous allons considérer les fluorénamines et, en particulier, la 2-fluorénamine (ou 2-AF), qui nous permet d'arriver au 2-AAF. On part donc du fluorène, on obtient le 2-nitrofluorène par nitration, et l'on réduit celui-ci ; les méthodes sont les mêmes,

les réducteurs seuls changent (zinc, chloride d'étain, chlorure de calcium et éthanol aqueux, et bien d'autres). En 1954. Rombach et Mac Gregor obtinrent de bonnes quantités de 2-AF par hydrogénation catalytique du 2-nitrofluorène dans l'éthanol à 80° C.



(II)

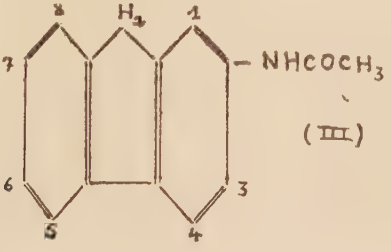
Le dérivé 2 du 2-AF est le plus souvent obtenu. Les charges sont d'ailleurs décroissantes de la position 1 vers la position 8, mais ne correspondent pas forcément à des quantités décroissantes dans l'obtention des isomères.

L'acétylation du 2-AF donne le *2-acétyl-aminofluorène* (2-AAF). Pour Strasburger, son point de fusion est de 188° C. Mais on a observé des variations de 186 à 198° C.

Le 2-AAF a la formule suivante :

$$C_6H_4\,CH_2\,C_6H_3NHCOCH_3$$

tandis que sa formule développée (III) s'établit comme suit :



(III)

Il se présente sous l'aspect d'une poudre cristallisée jaune ocrassée, non soluble dans l'eau, mais soluble dans les solvants organiques (alcool, éther, acétone...). Nous avons pu obtenir des suspensions assez homogènes dans l'huile d'arachide.

Dérivés :

D'après Sawicki, la nitration du 2-AAF donne du nitro-2-fluorénamine en position 1 (moins de 1 pour 100 des cas) et plus souvent en position 3 et 7. On peut ioder le 2-AAF directement en position 7, ou indirectement en position 3. On peut le bromer aussi en position 3 et 7, le chlorer en position 3 (ou 7 plus difficilement), le fluorer en position 7 seulement. On a obtenu les dérivés N-alkyl, 7-alkyl, amino-acyl, hydroxy (7 et 3)... Tous ces produits sont plus ou moins cancérigènes.

DEUXIEME PARTIE

I. - PROPRIÉTÉS CANCÉRIGÈNES CHEZ LES ANIMAUX

Lors de l'apparition du 2-AAF, en 1941, l'induction de tumeurs par des corps chimiques était chose récente ; dix ans à peine s'étaient écoulés depuis la production de néoplasmes au point d'application cutanée, sept à huit ans depuis le premier cancer du foie par ingestion de colorants azoïques, trois ans depuis la première tumeur de la vessie par le 2-naphtylamine.

Le 2-AAF provoque non seulement des tumeurs de la vessie, mais encore des tumeurs de nombreux autres tissus. De plus, son activité est modifiée suivant les espèces et les souches des animaux, suivant les hormones et les régimes alimentaires.

MODES D'ADMINISTRATION

Le 2-AAF dans la nourriture, produit une grande variété de tumeurs à des points éloignés de la porte d'entrée. Pour l'utiliser, on mélange le corps à un excipient convenable, ou on le triture dans les aliments, ou encore on l'administre à la sonde œsophagienne. Bien d'autres artifices ont été employés.

A part la voie orale, toutes les autres voies ont été aussi utilisées : l'application sur la peau d'une solution acétonique (Bielschowsky) donne des tumeurs éloignées, puis ce sont les badigeonnages, les homogreffes sous-cutanées de tissu pulmonaire exposé au 2-AAF (Horning), les injections sous-cutanées dans différents solvants, les injections intrapéritonéales, les implantations sous-cutanées ou intramusculaires de cristaux. On a même essayé les injections dans le pharynx, les testicules ou la poche cæcale.

Dans tous les cas, ces divers procédés aboutissent aux mêmes résultats, c'est-à-dire à l'apparition de diverses tumeurs sur les tissus, même éloignés.

INFLUENCE DES ESPECES

On peut dire que la liste des animaux sensibles au 2-AAF peut s'établir ainsi dans un ordre décroissant :

Rat, Souris, Hamster, Lapin, Volaille, Chat et Chien. Jusqu'ici, le *Cobaye* et le Rat d'eau ont été réfractaires, sans que l'on puisse rattacher leur résistance à un facteur précis.

Chez tous les animaux, il y a une dose maxima à respecter pour permettre leur survie jusqu'à l'apparition des tumeurs, et une dose minima pour pouvoir en obtenir. La première est de 0,125 pour 100 du poids de la nourriture, la seconde de 0,004 pour 100 chez le Rat. Il est certain que la rapidité d'évolution est fonction du pourcentage de produit dans la ration, ce qui met, une fois de plus, en évidence la notion d'addition des doses en matière de cancer. Il faut aussi répéter ces doses un certain nombre de fois pour arriver à un résultat.

A l'intérieur de l'espèce, la souche même présente des variations, autant pour la cancéro-résistance que pour l'emplacement des tumeurs obtenues.

EFFETS CANCERIGÈNES

Chez le Rat, ils sont aussi nombreux que variés : on note des néoplasmes sur le foie, les mamelles, le conduit auditif (ce qui est bien particulier au 2-AAF), le cerveau, l'intestin grêle, l'estomac, le poumon, etc...

On a pu constater des effets cancérigènes sur la Grenouille, le Têtard et même sur des organismes inférieurs, tels que des microbes (Staphylocoque doré, Escherichia coli), la Paramécie ou la Drosophile.

Quant au *Cobaye*, tous les essais ont échoué, bien que menés longuement par MILLER et MILLER, en 1955, puis par URQUHART la même année.

La distribution des tumeurs dans les différentes espèces pourrait être expliquée par les différences de solubilité et de diffusibilité des agents inducteurs, mais pourrait résulter aussi des différences génétiques des enzymes dans la conversion métabolique de ces composés. Le fait que les produits finaux du métabolisme des cancérigènes ont peu ou pas d'action cancérigène ne veut pas dire que quelques intermédiaires peuvent ou ne peuvent être impliqués dans les processus de cancérisation.

II. - PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES ET LA CANCÉRISATION

On a souvent essayé de ramener les propriétés cancérigènes d'un corps à sa structure chimique. Certains ont même réussi à établir une relation assez nette entre ces deux éléments, et c'est ainsi qu'est née la théorie de la région K pour les hydrocarbures, à la suite des travaux d'HIEGER, en 1930. Mais, dans le cas du 2-AAF, cette théorie ne semble pas concorder. Elle se heurte, d'ailleurs, aussi à d'autres obstacles, par exemple le rôle de l'alimentation. De toutes façons, il est très difficile de ramener un fait chimique, donc constant, à un fait biologique aussi variable que le cancer.

On a étudié d'autres constantes physiques et chimiques du 2-AAF et de ses dérivés, en mettant en parallèle leur pouvoir cancérigène.

SPECTRE D'ABSORPTION ULTRA-VIOLET

SANDIN, en 1952, rapporte l'action cancérigène du 2-AAF à des maxima d'absorption ultra-violette pour des longueurs d'onde plus longues et des structures plus planes. Mais de telles relations ne peuvent être établies pour les différents dérivés du 2-AAF ; ainsi, le 7-iodo-2-fluorénylacétamide non cancérigène a une absorption ultra-violette maximum plus grande que le 2-AAF. Donc, pour le moment, on ne peut mettre en cause ces faits dans la cancérisation, pour les séries du fluorène. De même, RONDONI, en 1955, a échoué sur les rapports de la susceptibilité magnétique et de la cancérisation. Mais on peut toujours supposer que les composés étudiés ne sont pas les cancérigènes immédiats et demandent une modification métabolique pour exercer leur action biologique.

DIMENSIONS MOLECULAIRES

La molécule du 2-AAF mesure à peu près 2 Angströms, alors que d'autres dérivés non actifs sont plus gros (jusqu'à 4 A). PAULING a ainsi étudié différents dérivés : fluoré (1,28 A), chloré (1,98 A), bromé (2,28 A) et iodé (2,68 A). Les deux premiers sont cancérigènes alors que le dernier ne l'est pas, le dérivé bromé non étudié serait à la limite d'activité. Cela signifierait donc que la taille et l'orientation de la molécule ont un rôle important, mais, en retour, le corps doit s'adapter à des dimensions réduites dans un certain espace pour être actif. Donc la tumeur serait obtenue par combinaison du cancérigène avec un constituant endogène du corps sous des conditions stéréochimiques bien définies et strictes, ce qui paraît peu probable en biologie.

REACTIONS D'OXYDO-REDUCTION

Certains corps, comme les amines aromatiques, peuvent fonctionner comme agents d'oxydo-réduction et interférer avec les processus vitaux intimes. Mais pas toutes les molécules contenant cette structure sont cancérigènes. Une molécule doit s'adapter à un certain modèle de molécule réceptrice pour être cancérigène.

En conclusion, le problème chimique du cancer reste toujours entier, montrant bien, qu'en matière biologique, on ne peut rien ériger en règle mathématique.

III. - MÉCANISME DE CANCÉRISATION

INTERACTION DU CANCERIGENE ET DES TISSUS CONSTITUANTS

Ce problème se présente à nous de deux manières différentes :

— *In vivo,*

— *In vitro.*

Nous les étudierons successivement.

a) *In vivo :*

Miller et Miller (1953), les premiers, en 1947, mirent en évidence une interaction directe entre le cancérigène et les protéines tissulaires, pour les colorants azoïques. Puis, cette interaction fut découverte aussi, pour d'autres cancérigènes, grâce aux éléments radioactifs ; on remarqua des interactions entre ces cancérigènes et les protéines du foie, ou d'autres organes (Miller et Miller - 1952). Une semaine après le traitement d'un rat au 2-AAF, 50 à 70 pour 100 de la radioactivité des cellules hépatiques était conservée ; elle peut être détectée encore deux semaines après. L'isotope au C_{14} persiste trente-deux jours après une simple dose intrapéritonéale de 5 mg de 2-AAF chez un rat. Au contraire des colorants azoïques, le 2-AAF radioactif ne se fixe pas seulement sur le foie, mais *sur tous les organes du corps*. De telles découvertes sont assez suggestives pour montrer ces relations entre protéines et corps cancérigènes, puis entre la liaison de la protéine et la tumeur obtenue. Cependant, des organes comme le cœur, où la protéine se fixe, n'ont pas de tumeur. Chez les espèces susceptibles, les plus hauts taux de 2-AAF marqué sont obtenus au foie (92,112/min/mg de protéine chez le Rat), et les taux les plus bas chez les espèces réfractaires (9,10 pour le Cobaye) d'après Miller et

Miller (1955). Le foie du Cobaye ne contient donc sûrement pas le type de protéines requises pour avoir une bonne liaison.

Toutefois, on remarque la liaison de corps non cancérigènes, comme le N-(7-hydroxy-2-fluorényl)acétamide avec des protéines tissulaires ; pour Heidelberger et Moldenhauer (1956), ces corps affecteraient simplement une position différente vis-à-vis des protéines. Un cancérigène serait supposé rester attaché plus fortement aux éléments cellulaires.

La technique de la liaison de la protéine est cependant rudimentaire, puisqu'elle envisage la protéine totale d'un organe et non les différentes protéines de celui-ci ; on a même suggéré que certaines d'entre elles, qui sont liées, ne prennent pas part aux processus cancérigènes par la suite. Actuellement, on pense que celles vraiment actives sont très peu nombreuses. En effet, en hydrolysant des protéines et en extrayant l'isotope du mélange résultant avec l'éther, celui-ci était trouvé aussi bien dans la phase organique que dans la phase aqueuse.

La protéine isolée se lie facilement à des corps non cancérigènes chez le Rat, et au 2-AAF lui-même chez le Cobaye, alors qu'elle ne l'est pas sur les extraits de foie après ingestion de ces mêmes corps *in vivo*. Ces résultats contradictoires peuvent être expliqués par le fait que les métabolites hydroxylés du 2-AAF, qui lient la protéine, sont toujours produits *in vitro*, alors qu'*in vivo* le Cobaye peut convertir ces dérivés hydroxy en conjugués (Dyer et Morris - 1956).

b) *In vitro :*

Gutmann, surtout, étudia les relations protéine-cancérigène *in vitro* sur des tranches de foie de rat, et remarqua

que l'activité de la liaison de la protéine augmentait avec l'hydroxylation du 2-AAF en position 9. Il en conclut qu'elle était nécessaire pour lier la protéine.

MODES DE COMBINAISON POSSIBLES

Pour comprendre la formation intime d'une néoplasie produite chimiquement, il faut découvrir la nature de la liaison existant entre le cancérigène et les protéines tissulaires. Là aussi, de nombreuses théories veulent expliquer ces faits ; l'une d'entre elles ferait intervenir des composés appelés « époxides » comme intermédiaires possibles ; ceux-ci seraient des corps hydroxylés dérivés de composés aromatiques (Boyland - 1950). D'autres pensent que des imine-quinone, dérivées de l'oxydation de certains amino-fluorénols, peuvent aussi se combiner à des protéines.

Les différences de cancéro-résistance entre rats et cobayes ont souligné l'importance des amines ortho-hydroxylées dans la genèse d'une tumeur. Des dérivés de ce genre pourraient se lier à la protéine grâce à un ion métal, qui viendrait sur le groupement nitré ; la formule serait stabilisée par union de l'hydrogène de la protéine à l'oxygène phénolique du 2-AAF. On a découvert ainsi, expérimentalement, plusieurs complexes stables ; certains sels métalliques ont empêché aussi *in vivo* la formation de tumeurs par des cancérigènes.

Mais le problème reste entier, et l'on ne peut dire avec certitude que les phénomènes se passent de telle ou telle manière. On ne se base actuellement que sur de simples constatations.

RELATIONS ENTRE LA CARCINOGENESE ET LA LIAISON PROTEINE-CANCERIGENE

La démonstration expérimentale d'une liaison entre des protéines et un cancérigène, ou ses métabolites, est une

découverte exceptionnelle dans la parenté entre le produit chimique et les tissus affectés. Certaines protéines posséderaient des fonctions de contrôle d'accroissement, et leur élimination éventuelle conduirait à la croissance effrénée caractéristique du cancer. Seul, HADOW (1953) soutient que les cancérigènes ont une action plus directe sur les processus génétiques de base, et que la perte d'enzymes ou de protéines est secondaire ; il pense que les cancérigènes interférent dans les mécanismes de croissance des cellules normales. Cette conception a un très grand mérite, si l'on considère le type de structure moléculaire capable de provoquer une tumeur en interférant dans les processus cruciaux d'oxydo-réduction. En ce cas, une entrave directe ou indirecte du métabolisme, grâce à la combinaison protéine-cancérigène, peut jouer un rôle important dans la conversion de tissu normal en tissu anormal, mais ne suffit pas à engendrer la série des événements conduisant au cancer.

La thyroïdectomie ou l'hypophysectomie, bien connues pour inhiber la formation d'hépatomes chez le Rat, a peu d'effet sur la liaison de la protéine, ou sur la radioactivité du 2-AAF marqué. Chez l'animal hypophysectomisé, les facteurs stimulants de la tumeur doivent être absents, alors que, chez l'animal normal, ils surmontent l'effet freinateur sur la vie de la cellule, effet dû au cancérigène. Il peut en résulter quelques cellules assez modifiées pour échapper à ces freins imposés par le corps chimique. Cette modification peut survenir par lente adaptation, ou bien par mutation, ou encore par action d'une particule virale. De telles cellules auraient alors les qualités de cellules tumorales.

Pour CRILE (1958), la croissance des cellules est contrôlée par des hormones trophiques spécifiques, qui dépendent à leur tour des besoins cellulaires. Un trouble prolongé, quelque soit la cause, provoquerait la croissance excessive des

cellules et, finalement, une tumeur. Des expériences semblent le confirmer.

La diversité de ces théories prouve que l'on est encore loin de l'entière vérité, et qu'il reste beaucoup à découvrir sur le rôle véritable du cancérigène à l'égard de la cellule vivante.

IV. - MÉTABOLISME DU 2-AAF CHEZ LE COBAYE

Le métabolisme du 2-AAF a été étudié chez plusieurs espèces d'animaux, dont le Cobaye ; les procédés d'étude diffèrent plus ou moins, mais, d'une façon générale, on administre aux sujets d'expérience une simple dose, par voie orale ou parentérale, et l'on étudie la répartition du cancérigène dans les différents tissus, puis ses produits d'élimination.

Le métabolisme du 2-AAF est lié intimement à celui du 2-AF, puisque ce premier corps ingéré est converti sous forme du second ; une des étapes métaboliques du 2-AAF est son hydroxylation ; BIELSCHOWSKY le montra le premier, en 1945, en isolant du N-(7-hydroxy-2-fluorényl)acétamide dans l'urine de rats nourris au 2-AAF. Ce corps n'était plus détectable trois jours après arrêt du produit, mais il ne représentait, en définitive, que 5 à 8 pour 100 de la dose ingérée, donc d'autres métabolites doivent être produits par ailleurs.

On travailla d'abord par procédés colorimétriques pour suivre le 2-AAF à la trace dans le corps. MORRIS et WESTFALL (1948-1950) montrèrent la répartition de celui-ci dans tous les tissus en trois à cinq heures après une simple ingestion orale, puis son élimination dans l'urine ; on ne trouve rien dans les fèces. Mais, par ces méthodes, on ne récupère au maximum que 45 pour 100 de la dose initiale.

Au contraire de cet acompte incomplet, les récupérations de C_{14} ou N_{15} par les procédés radioactifs avoisinent 100 pour 100. On peut, alors, se fier aux données obtenues par ces techniques pour édifier un schéma exact et complet des modifications diverses du corps étudié. Aucune radioactivité ne

fut détectée dans le CO_2 exhalé des sujets traités au 2-AAF radioactif, et le N_{15} employé ne fut pas retrouvé dans l'urée et la créatinine urinaires.

a) REPARTITION DE L'ISOTOPE

Après l'ingestion d'une simple dose de 2-AAF marqué en position 9 au C_{14}, la radioactivité est enregistrée dans de nombreux tissus ; on observe alors une réaction plus forte dans les premières heures que dans des périodes plus tardives. La présence de quantités substantielles de radioactivité dans les fractions particulaires de la cellule suggère quelque combinaison entre le cancérigène, ou ses métabolites, et les constituants cellulaires.

b) EXCRETION DE L'ISOTOPE

La radioactivité tissulaire décroît assez rapidement, et une portion considérable de la dose ingérée est excrétée ; les taux les plus élevés dans l'urine apparaissent entre six et trente heures après l'ingestion, 60 à 70 pour 100 est rejeté par les reins en trois à quatre jours, et 25 à 35 pour 100 dans les fèces, mais longtemps encore l'urine réagit. Les mêmes pourcentages furent enregistrés avec du 2-AAF marqué au N_{15}, c'est donc que le groupement aminé et le carbone en position 9 restent accolés lors des transformations métaboliques du cancérigène. Une étude approfondie de l'urine montra que ces métabolites urinaires étaient très acides. La plus grande partie est sous forme libre, le reste est conjugué. Mais chez le Cobaye, 1 à 2 pour 100 seulement de la radioactivité urinaire représente les métabolites libres extractables dans l'éther, tandis que 80 pour 100 est conjugué à l'acide glycuronique, et 5 pour 100 à l'acide sulfurique. La faible proportion des métabolites non conjugués est peut-être liée à la résistance de cette espèce au 2-AAF.

c) CHEMIN SUIVI DANS LE CORPS PAR LE 2-AAF

Lors d'ingestion *per os*, le 2-AAF semble être peu modifié, si ce n'est à l'estomac où il est légèrement absorbé chez les animaux normaux. La trypsine pancréatique n'a pas d'effet sur le cancérigène, mais certains systèmes enzymatiques du duodénum l'hydrolysent.

Plus loin, l'absorption dans l'intestin et la traversée de la paroi intestinale sont peu connues. KIRBY (1947) pense que le cancérigène atteint le foie par la circulation mésentérique, car le lobe droit où le sang arrive présente plus souvent des hépatomes. Mais BIELSCHOWSKY ne vit pas de localisations si précises, et conteste ces données.

On a montré que, dans le foie, ont lieu des réactions d'acétylation et de désacétylation, d'hydroxylation et de conjugaison avec les acides glycuronique et sulfurique, et encore bien d'autres réactions inconnues.

A partir du foie, quelques métabolites sont dispersés *par le sang* dans les différents tissus du sujet. La quantité de ces métabolites à un moment donné est faible, mais ils persistent très longtemps (près de trente-cinq jours) dans le sang, bien que la plupart soient rapidement excrétés par les reins et retrouvés dans l'urine.

D'autres métabolites quittent le foie *par la bile* : environ 40 pour 100 d'une dose ingérée est ainsi excrétée en trois jours, et constitue la majorité de la radioactivité des fèces, le reste étant constitué par du 2-AAF non absorbé aux villosités intestinales. L'excrétion urinaire décroissante, chez les animaux à fistule biliaire, prouve que les métabolites libérés par la bile dans l'intestin sont en partie réabsorbés vers le torrent circulatoire ; une moitié de l'activité urinaire est ainsi mise en jeu. Chez les rats, en trois à qua-

tre jours, les deux tiers de la dose sont retrouvés dans l'urine, et un tiers dans les fèces ; il ne reste que 5 pour 100 dans le corps. Chez le Cobaye, le rapport $\frac{\text{urine}}{\text{fèces}}$ est voisin de $\frac{6}{1}$ et tout est excrété sauf quelques traces.

d) TRANSFORMATIONS SUBIES PAR LE 2-AAF

Ces transformations comportent essentiellement les réactions de désacétylation, puis d'hydroxylation du noyau fluorène, suivies de la conjugaison aux acides glycuronique et sulfurique.

1) DESACETYLATION

Elle fut prouvée, en 1941, par WILSON, grâce à une étude du métabolisme du 2-AAF marqué avec du C_{14} au niveau du groupement acétyl, ou à la position 9. Dans le premier cas, on retrouve du CO_2 radioactif dans l'air expiré par les animaux d'expérience, alors qu'on ne décèle rien dans le deuxième cas. La répartition de la radioactivité dans les organes et les excréments change aussi dans les deux cas. C'est donc que le groupement acétyl de la molécule est désengréné de celle-ci. Des tranches de foie de rat, en présence d'oxygène, convertissent le 2-AAF en 2-AF, et ceci grâce à une désacétylase que l'on est arrivé à purifier.

La désacétylation est aussi effectuée dans le poumon, la rate, le rein, et même le cerveau ou le cœur. NAGASAWA et GUTMANN découvrirent, en 1957, qu'une désacétylase intestinale libérait les amines à partir des amides, ce qui éclairait un peu plus le chemin parcouru par le cancérigène ; cet enzyme est d'ailleurs plus actif que l'enzyme hépatique à l'égard de nombreux substrats.

Cette transformation du 2-AAF en 2-AF peut être réversible ; les tranches de foie de rats convertissent le 2-AF en son dérivé acétylé aux mêmes taux que dans la réaction inverse ; si l'on ajoute de l'acétate, on déplace l'équilibre en faveur de l'acétylation.

Mais ceci ne représente que la première étape métabolique, suivie de bien d'autres plus ou moins connues.

2) HYDROXYLATION

Elle a été étudiée et prouvée de deux façons différentes par les chercheurs :

— *In vivo* : l'hydroxylation se fait sur le noyau aromatique aux positions 1, 3, 5, 7 et 8, mais les plus courantes sont les positions 5 et 7, qui représentent aussi les endroits substitués chimiquement par les réacteurs électrophiliques (tel un groupement nitré).

Urquhart, en 1955, isola, dans l'urine du Cobaye traité, du N-(7-hydroxy-2-fluorényl)acétamide ; 70 à 80 pour 100 de la dose orale, contre 25 pour 100 chez le Rat qui produit aussi des dérivés hydroxylés en 1 et 3, et du N-(5-hydroxy-2-fluorényl)acétamide en quantité appréciable. Chez le Cobaye, le quasi-manque d'orthohydroxylation semble très important, et le manque de dérivés hydroxylés en position 1 et 3 peut être un effet des différences profondes entre les espèces au point de vue cancérigène.

Peu de dérivés hydroxylés excrétés restent libres, les autres sont conjugués aux acides glycuronique ou sulfurique (88 pour 100 chez le Rat, « 98 pour 100 » chez le Cobaye). Cette plus forte proportion explique sûrement le peu d'effet cancérigène du 2-AAF à l'égard de ce dernier animal. D'un autre côté, l'oxydation dans les cellules vivantes, ou l'intestin, peut former, avec les métabolites, des substances poly-

mériques insolubles, donc inoffensives. Ceci explique l'excrétion de corps insolubles non identifiés dans les fèces (6 à 9 pour 100 d'une dose de 2-AAF), et la présence de matériaux à protéine liée dans plusieurs tissus d'animaux traités.

Outre l'hydroxylation, d'autres réactions biochimiques se produisent, parmi lesquelles nous citons la méthylation du groupement aminé, l'oxydation du carbone 9-méthylène en cétone, l'ouverture du noyau en position 9, ce qui donne des dérivés de l'acide biphénylcarboxylique.

— *In vitro* : l'hydroxylation a été observée sur les tranches de foie de rat dans une atmosphère d'oxygène ; elle demande comme enzymes un nucléotide triphosphopyridine, du glucose-6-phosphate et la déhydrogénase correspondante. Dans quelques cas, la désacétylation est concomitante.

Les réactions permettent de trouver les mêmes dérivés, hydroxylés en positions 1, 3, 5 et 7. Les expériences concordent donc avec les observations *in vivo*.

V. - ACTIONS DU 2-AAF SUR L'HOTE

Le 2-AAF étant arrivé dans le corps, produit sur l'organisme diverses perturbations que l'on peut enregistrer à différents niveaux : sur les protéines, les acides aminés et nucléiques, la graisse et le glycogène, les vitamines, les enzymes. Nous allons les étudier successivement en soulignant qu'elles sont peut-être dues à une combinaison des métabolites du 2-AAF plutôt qu'à une action directe du cancérigène lui-même...

a) PROTEINES

Après six semaines d'ingestion, le 2-AAF ne cause aucune modification des composants du sérum. Mais, plus tard, on décèle des changements notables grâce à l'électrophorèse.

Chez le Rat portant des hépatomes, ou après cent à cent cinquante jours de prise de 2-AAF, on note un accroissement des α_1, α_2 et β globulines, une baisse de l'albumine, et seulement une tendance à la baisse des γ globulines.

Lors de nos expériences, nous n'avons pu étudier les variations du sérum du Cobaye qui, à l'état normal, est très riche en α_2 globulines, et pauvre en β_1, β_2 et γ.

D'après LEATHEM (1949), lors d'ingestion de 2-AAF, la concentration de la protéine hépatique décroît ; en même temps, on note un rapport $\frac{\text{albumine}}{\text{globuline}}$ du sang plus faible, et une baisse d'hémoglobine.

A un stade plus précis, Fritz-Niggli, en 1956, note que les cellules du foie du Rat restent à peu près normales en taille, mais que le noyau augmente aux dépens du cytoplasme, ce qui semble expliquer l'accroissement de la protéine nucléaire, et la baisse de la protéine de la mitochondrie.

b) ACIDES AMINES

La chromatographie sur papier des acides aminés du foie a montré que cystine, lysine, histidine, asparagine, arginine, sérine, acide aspartique, glycine, acide glutamique et glutathion augmentaient lors de traitement au 2-AAF, que l'alanine ne changeait pas, et que cystéine, méthionine, phénylalanine, valine et leucine diminuaient, preuve de déplacement catabolique du métabolisme de la protéine.

c) ACIDES NUCLEIQUES

Actuellement, nous savons que l'acide ribonucléique diminue graduellement dans les cellules hépatiques pendant l'ingestion de 2-AAF, et que l'acide désoxyribonucléique, les rapports adénine-guanine, cytosine-guanine et thymine-guanine restent normaux, montrant que le pouvoir de synthétiser la protéine n'est pas grandement affecté. La baisse de l'acide ribonucléique est expliquée par sa quasi-disparition dans les mitochondries, malgré un accroissement assez net dans les noyaux. La dose *totale* d'acide reste sensiblement la même pendant la cancérisation, étant donné l'augmentation de volume du foie.

d) GRAISSE ET GLYCOGENE

Avec un régime de 11 ou 20 pour 100 de caséine, le taux de graisse du foie n'est pas affecté, mais il augmente avec

le même régime additionné de méthionine, de cystine ou de glycine.

De même, le taux de glycogène ne varie pas avec un régime à 11 pour 100 de caséine, mais il augmente si l'on ajoute de la méthionine ou de la cystine

D'après CANTAROW, les grains de glycogène tendent à disparaître dans les cellules d'un foie néoplasique traité au 2-AAF.

e) VITAMINES

La riboflavine hépatique s'épuise dans un traitement au 2-AAF, et il faut décupler la riboflavine alimentaire pour couvrir les effets du cancérigène.

Chez le Cobaye, le 2-AAF fait toujours décroître l'acide ascorbique du foie à la moitié de sa valeur normale (KENNAWAY et coll., 1955). En effet, cet animal oxyde le cancérigène en dérivés hydroxy variés, et l'acide ascorbique se trouve impliqué dans ces processus d'hydroxylation. Le Cobaye ne pouvant synthétiser suffisamment cette vitamine, au contraire du Rat, épuise rapidement ses réserves hépatiques.

Quant à la pyridoxine, son action et ses variations sont encore discutées à l'heure actuelle.

f) ENZYMES

Nous avons peu d'études approfondies à leur sujet, mais leurs taux ont, néanmoins, été déterminés.

— Oxidases : Dans un foie à tumeur due au 2-AAF, l'activité oxydase succinique baisse (HOCH-LIGETI - 1956) pendant la durée d'ingestion du cancérigène, de pair avec une baisse du cytoplasme et du nombre de mitochondries, lors des phases précancéreuses.

In vitro, le cancérigène empêche la production d'oxygène dans les homogénats et les mitochondries de foie de rat (avec addition de glutamate, par exemple), et il entrave aussi les déshydrogénases malique, isocitrique, la catalase du foie, l'oxydase choline, tyramine, etc... Le mécanisme est encore peu connu, les résultats étant même contestés.

— Protéases : Grâce aux travaux de Rondoni (1950), nous savons que le 2-AAF inhibe la digestion de la gélatine par la papaïne. Le cancérigène réagirait avec les groupements thiol, et inactiverait les enzymes. Malheureusement, certains auteurs sont d'un avis opposé.

— Estérases : La pseudo-cholinestérase du plasma augmente pendant la durée d'ingestion du 2-AAF, puis diminue au stade néoplasique en restant, néanmoins, supérieure à la normale. L'estérase dans le sérum et l'acétylcholinestérase au niveau du foie augmentent très nettement.

Par contre, aucun effet n'est constaté sur la phosphatase du sérum des rats et la phosphatase acide des tumeurs hépatiques ; mais la phosphatase alcaline de ces mêmes tumeurs est multipliée par 6, alors que l'estérase hépatique diminue de moitié.

— Amidases : Dans le rein et le cerveau de rats nourris au 2-AAF, l'activité asparaginase ne varie pas, mais elle diminue régulièrement dans le foie pour être très basse dans les hépatomes. La glutaminase hépatique baisse aussi pendant la période précancéreuse, pour devenir supérieure au taux normal à l'arrêt du cancérigène ; elle a un taux normal dans les hépatomes.

Le 2-AAF a peu d'effet sur l'activité arginase hépatique jusqu'à la formation des hépatomes, où elle baisse terriblement.

— Désaminases : Takahashi (1954) a observé que les taux de guanase du foie ne bougent pas à un pH de 9 lors des phases précancéreuses et cancéreuses, mais qu'ils diminuent progressivement à d'autres pH.

Le 2-AAF n'a pas d'effet sur la désaminase purine.

— Enzymes variés : L'activité uricase reste presque normale jusqu'à la formation du cancer hépatique, puis baisse brusquement de 98 pour 100.

L'activité urinaire β-glycuronidase est augmentée chez les rats nourris au 2-AAF.

Aucun effet n'est perçu sur la désoxyribonucléase, en corrélation peut-être avec le fait que l'acide désoxyribonucléique du foie n'est pas affecté durant la carcinogenèse.

La ribonucléase alcaline baisse, et la ribonucléase acide n'est pas inhibée pendant l'ingestion de 2-AAF, impliquant sans doute une action toxique de ce produit sur les cellules hépatiques.

En conclusion, nous pouvons dire que le 2-AAF produit de nombreux changements importants chez son hôte, surtout dans le foie, montrant un effet inhibiteur sur la protéine, la riboflavine, l'acide ribonucléique et différents enzymes. Le cancérigène perturbe donc sérieusement les fonctions normales jusqu'à amener cet état favorable (que l'on dit précancéreux), propice à la formation des différentes tumeurs.

VI. - ROLE DE L'ALIMENTATION : CHOIX DU RÉGIME

L'alimentation joue un rôle essentiel dans la cancérisation expérimentale, et le 2-AAF n'y échappe pas. En effet, *suivant les régimes*, celui-ci se révèle plus ou moins actif sur la formation des tumeurs. Il diminue aussi le gain de poids quotidien des jeunes rats en croissance, proportionnellement à la dose de cancérigène contenu dans la ration. Cette baisse, due en partie à une prise de nourriture décroissante des animaux, et en partie à leur souche, dépend aussi d'autres facteurs qu'il nous reste à déterminer, puisqu'elle est enregistrée même avec addition de glycine, méthionine ou cystine dans une ration type (de 11 pour 100 de caséine, par exemple).

Cette variation du cancérigène d'après l'alimentation est expliquée par le fait que les aliments « protecteurs » favorisent la « détoxification » des corps chimiques tels que le 2-AAF. Les premiers chercheurs remarquèrent que l'addition d'extrait de foie ou de levure sèche retardait le développement des tumeurs (surtout hépatiques), mais que d'autres constituants diététiques n'influençaient pas la cancérisation. Nous allons ainsi étudier l'action des différents régimes alimentaires et de leurs constituants : protides, lipides, vitamines, etc..., en délaissant les glucides qui n'offrent pour nous aucun intérêt.

REGIMES

Il y en a deux essentiellement : le régime *stock* et le régime *semi-synthétique*. Le premier est constitué de den-

rées naturelles et fraîches, en général, telles que la salade, le foin, les graines, etc..., alors que le second est préparé mécaniquement à l'avance, par mélange et broyage des constituants, en vue d'obtenir des poudres ou des granulés auxquels on ajoute les vitamines et les éléments minéraux indispensables. A la suite de nos expériences, où les deux régimes ont été employés, nous avons pu constater une survie bien meilleure et un gain de poids bien supérieur avec le régime stock ; et ceci se conçoit aisément si l'on sait que le Cobaye est particulièrement sensible aux carences vitaminiques C, possibles avec le régime semi-synthétique.

Miller et ses collaborateurs ont observé un développement tumoral plus précoce avec un régime de grains, ce qui semble s'accorder avec nos résultats, puisque seul un tel régime a pu entraîner quelques modifications sur nos cobayes d'expérience.

INFLUENCE DES PROTEINES

Cette influence est plus ou moins nette, mais l'on peut dire, d'une façon générale, qu'une augmentation du taux des protéines alimentaires diminue les chances d'obtenir des tumeurs et augmente le temps de latence, alors qu'une baisse appréciable de ces protéines favorise les lésions sur différents tissus et diminue le temps de latence. Toutes ces expériences sont peu nettes, et il faut une hausse de 40 pour 100 ou même 60 pour 100 des protéines dans le régime pour voir apparaître des effets appréciables.

Un régime riche en protéines favorise donc la survie des animaux traités ; on y arrive en augmentant le taux de caséine ou de lactalbumine, ou encore en ajoutant de la poudre de foie de bœuf, du lait frais, etc...

ACIDES AMINES

Après hydrolyse de la caséine, l'adjonction de 0,14 pour 100 de tryptophane (dose insuffisante pour la croissance normale des rats) améliore la survie de soixante-dix jours ainsi que la période de latence, et diminue l'incidence des tumeurs du foie. Par contre, une adjonction supérieure à la normale de tryptophane favorise les tumeurs de la vessie (DUNNING et CURTIS - 1957).

Quelle en est l'explication ? Peut-être une modification métabolique du 2-AAF par le régime qui rend le cancérigène plus actif sur la vessie. Mais on n'a pas trouvé de différences appréciables dans les métabolites urinaires ou dans la radioactivité des foies et reins de rats, après marquage au C_{14} du tryptophane et du 2-AAF. Un déplacement compétitif entre les métabolites du 2-AAF et ceux du tryptophane expliquerait la période de latence accrue.

LIPIDES

En général, un régime très gras favorise l'induction de tumeurs mammaires ; un régime peu gras, c'est-à-dire une restriction de calories, la baisse. Mais on a vu le contraire se produire pour certaines tumeurs de l'œil ou de l'oreille.

VITAMINES

L'administration d'acide ascorbique ou de biotine avec le 2-AAF ne donne aucun effet particulier.

L'addition de riboflavine permet une meilleure survie et protège quelque peu des effets toxiques du cancérigène. Un taux très élevé de cette vitamine favoriserait les tumeurs mammaires et de l'oreille.

Une nourriture avec mélange de vitamines B_{12} et de folacine hâte la production des tumeurs mammaires.

CONSTITUANTS VARIES

L'addition de cystine, causant des dommages au foie, favorise les tumeurs hépatiques chez des rats femelles (Bielschowsky - 1944). On n'obtient aucune modification avec ventriculine, inositol ou choline, méthionine, acide désoxyribonucléique.

VII. - INFLUENCE des FACTEURS HORMONAUX

L'influence des facteurs hormonaux est considérable, surtout pour les cobayes, chez qui certaines hormones administrées régulièrement arrivent à provoquer des tumeurs. Lors de nos expériences, nous n'avons pas voulu combiner leur action à celle du 2-AAF, car alors à qui attribuer réellement les résultats ? Nous ne rapportons ici que quelques observations montrant l'action de certaines hormones lors du traitement cancérigène.

HORMONES STEROIDES

A l'origine, on nota que les rats femelles supportaient des doses plus fortes et plus soutenues de 2-AAF que les mâles. Bielschowsky, en 1944, montra, chez ces derniers, une plus grande fréquence de tumeurs hépatiques, et une rareté de tumeurs mammaires. La castration accroît ces effets chez les mâles, alors que, chez les femelles, elle arrête les tumeurs mammaires ; donc, les sécrétions ovariennes sont impliquées étroitement dans la genèse de ces mêmes tumeurs.

a) Effets sur les Tumeurs mammaires

La castration ou l'injection de testostérone chez les femelles a un effet inhibiteur, non réversible par la progestérone. Un supplément d'œstrogènes favorise grandement le cancer de la mamelle. Le mécanisme est peu connu ; le 2-AAF administré peut avoir des répercussions générales sur l'animal et changer le système hormonal vers un nouvel équilibre où plus d'un facteur est altéré. On écarte un effet œstrogénique du 2-AAF seul dans la formation des tumeurs mammaires, bien que le cancérigène semble inhiber l'œstrus chez la plupart des femelles traitées. Il n'affecte en rien les gestations, mais diminue la taille des nouveau-nés et atténue

la lactation, ce qui a pour effet d'augmenter la mortalité infantile.

D'après Bielschowsky, les tumeurs de la mamelle augmentent pendant la gestation, puis s'arrêtent à la lactation pour repartir au sevrage. Une fois la tumeur établie, aucune régression n'apparaît avec l'ovariectomie.

b) Effets sur les Tumeurs du foie

On note beaucoup plus de tumeurs hépatiques, et une période de latence plus courte, chez les mâles que chez les femelles. On arrive à augmenter le taux des tumeurs en administrant de l'œstradiol aux femelles, et de la testostérone aux mâles. Par contre, ce taux baisse considérablement si les mâles sont castrés, et surtout traités au stilbœstrol.

Les injections de cortisone semblent accélérer les tumeurs hépatiques.

Les hormones sexuelles ont donc un rôle certain dans la genèse des tumeurs, mais sans que l'on puisse encore expliquer d'une façon certaine leur action intime au niveau des tissus ou même des cellules.

HORMONES THYROIDIENNES

Cantarow et ses collaborateurs (1946) notèrent l'action protectrice du thiouracil à l'égard des tumeurs hépatiques, s'il est ingéré avec le 2-AAF. On a alors pensé que ce corps goitrigène avait une action directe sur quelque mécanisme enzymatique de la cellule du foie qui détruirait l'action du cancérigène ; cette théorie est étayée par le fait que la protection du thiouracil est vaincue par l'administration simultanée d'uracil (Paschkis et coll., 1951).

L'hypothyroïdisme semble être un facteur important, d'autant plus que l'administration de thyroxine combat aussi

l'effet protecteur du thiouracil. La thyroïdectomie avant le début des expériences prévient le développement des tumeurs hépatiques, mais n'a aucune action sur les tumeurs des autres tissus. Si la thyroïdectomie est tardive, les tumeurs du foie apparaissent quand même.

D'après Bielschowsky (1956), l'action de la thyroïde est obtenue *via la pituitaire*. On peut alors expliquer l'action du **thiouracil** dans la prévention des tumeurs hépatiques du Rat par un effet direct sur la cellule hépatique et sur l'état hypothyroïdien créé par elle.

HORMONES HYPOPHYSAIRES

L'hypophyse est connue pour exercer des influences prépondérantes sur de nombreuses glandes endocrines par ses sécrétions, de telle sorte que l'équilibre de l'organisme dépend en grande partie d'elle.

a) Excès d'Hormones

Des expériences de parabiose ont été pratiquées en accolant un rat normal à un rat castré. La castration entraîne toujours un excès de sécrétion d'hormones gonadotropes (folliculotrope, en particulier), provoquant une hypertrophie des glandes sexuelles et une sécrétion inhabituelle d'hormones sexuelles chez le Rat normal, qu'on traite, par ailleurs, au 2-AAF. On obtient alors des tumeurs des vésicules séminales chez les mâles, et des ovaires chez les femelles (au niveau de la granulosa, ce qui indique le taux élevé d'hormone folliculotrope dans l'organisme).

La néoplasie du foie manque chez le compagnon parabiotique ne recevant pas directement le cancérigène. Les gonadotrophines hypophysaires produites chez le partenaire castré déploient leur effet chez le Rat intact. Par suite, on présume que l'hormone passe de l'un à l'autre animal logi-

quement par le système circulatoire commun. Le 2-AAF atteindrait aussi le parabiote, mais sous forme de métabolites inoffensifs, en particulier au niveau du foie.

Des injections de gonadotrophines ont échoué, peut-être à cause de leur différence avec les hormones internes, ou bien à cause de leur dose et de leur durée insuffisantes.

b) Carence en Hormones

L'hypophysectomie, même après vingt-six semaines d'administration de 2-AAF, empêche la conversion de tumeurs du foie bénignes en hépatomes malins. Si l'opération est pratiquée au début, elle permet même d'éviter l'hyperplasie et la cirrhose de l'état précancéreux, ainsi que les symptômes caractéristiques de cet état.

La carcinogenèse est rétablie par administration d'adrénocorticotrophine, qui rétablit la morphologie adrénalienne et la croissance.

L'ablation de la pituitaire n'a pas le même effet protecteur à d'autres endroits que le foie ; on note, par exemple, des tumeurs des glandes sébacées ou de l'œil avec des foies normaux. Cette protection hépatique est donc spécifique, et ne couvre pas les autres tissus de l'organisme.

HORMONES PANCREATIQUES

En rendant des rats diabétiques par des injections d'alloxan, puis en les traitant six mois au 2-AAF, Jacoby et Woodhouse, en 1946, notèrent une tumeur du conduit auditif. Malheureusement, ces expériences n'ont pas été confirmées, ce qui nous laisse bien indécis au sujet des îlots de Langerhans.

TROISIEME PARTIE

EXPÉRIENCES PROPREMENT DITES SUR LE COBAYE

Nos expériences ont porté sur deux lots successifs de cobayes, les premiers étant morts en totalité au cours de l'été 1959, par carence en vitamine C. Nous étudierons les deux séries d'animaux séparément.

PREMIERE SERIE D'EXPERIENCES 1959

Quatorze cobayes, de race commune, choisis pour leur couleur bien reconnaissable plutôt que pour une souche définie, furent répartis en trois cages et numérotés à l'oreille de la façon suivante :

— Quatre mâles dans la cage I, numérotés de 1 à 4 ;

— Cinq femelles dans la cage II, numérotés de 5 à 9 ;

— Cinq mâles dans la cage III, numérotés de 10 à 14.

L'alimentation est assurée sous forme de régime semi-synthétique, grâce à des granulés vitaminisés spéciaux pour cobayes, contenant :

17,5 pour 100 de farine de luzerne déshydratée,

4 pour 100 de germe de blé,

12,5 pour 100 d'issues et radicelles d'orge,

34 pour 100 de céréales,

3 pour 100 de levure de bière,

22 pour 100 de tourteaux et mélasse,

7 pour 100 de produits divers et minéraux.

et dont la composition est la suivante :

17,7 pour 100 de protéines,

2,5 pour 100 de matières grasses,

12 pour 100 de matières cellulosiques,

9 pour 100 de matières minérales,

Vitamine B_2 : 650.000 microgrammes au quintal,

Vitamine A : 2.000.000 U.I.A. au quintal,

Vitamine D_2 : 500.000 U.I.A. au quintal,

Vitamine C : 60 grammes au quintal.

Chaque cobaye reçoit, tous les jours, 45 g de ces granulés, sans aucun autre complément. L'eau est donnée à volonté.

Méthodes de Cancérisation

La cancérisation fut effectuée de trois manières différentes :

— les cobayes n^{os} 1, 2 et 3 reçurent chacun cinq injections sous-cutanées d'une solution de 2-AAF dans l'huile d'arachide (à 5 pour 100, puis à 10 pour 100), au niveau du pli de l'aine droit. Ces injections de 0,5 cm^3 de solution, contenant 23 puis 50 mg de produit actif, furent espacées d'une semaine. La dose totale monta à « 169 mg » en cinq semaines (du 25 avril au 28 mai).

— les cobayes n^{os} 13 et 14 absorbèrent oralement une dose totale de « 93 mg » de 2-AAF, répartie sur dix jours (du 15 au 24 avril), par doses variables quotidiennes.

— les cobayes n^{os} 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 et 12 reçurent, à la suite, les doses orales et les injections des deux groupes précédents, mais avec cette variante : les n^{os} 8, 9, 10, 11 et 12 subirent des injections intrapéritonéales et non sous-cutanées. La dose totale fut de « 262 mg », répartis sur un mois et demi, du 15 avril au 28 mai. Aucun accident consécutif aux piqûres n'a été observé, si ce n'est quelques abcès vite guéris, à l'endroit des sous-cutanées, et dûs sûrement à une mauvaise résorption du produit huileux.

Préparation

a) *Pour les injections :*

Pour réaliser la solution à 5 pour 100, il nous a fallu mélanger 1 g de 2-AAF à 20 g d'huile d'arachide ; afin que cette solution soit homogène, la poudre doit être soigneusement écrasée dans un mortier, puis on verse lentement l'huile en continuant à triturer le mélange avec le pilon. Malgré ces précautions, des dépôts se produisent et il est nécessaire d'agiter le flacon avant chaque emploi.

Au bout de trois injections, nous avons doublé la concentration, jugée trop faible. A ce moment, 2 g de 2-AAF étaient nécessaires pour 20 g d'huile.

b) *Pour l'administration orale :*

Notre ignorance et notre maladresse du début nous obligea à changer deux fois de méthode, ce qui en complique le compte rendu.

Le 15 avril, on administre, au compte-gouttes, avec quelles héroïques manœuvres, III gouttes d'huile contenant 1 mg

de cancérigène à chaque cobaye choisi. Mais voyant une mauvaise suspension se produire, nous décidons de dissoudre d'abord 450 mg de 2-AAF dans XXX gouttes d'acétone, auxquelles nous ajoutons CXXX gouttes d'huile d'arachide. Chaque cobaye reçoit, pendant quatre jours, III gouttes de cette solution, équivalent à 8 mg de produit actif.

Nous décidons d'augmenter encore la dose quotidienne Nous dissolvons alors 1 g de 2-AAF dans 25 cm^3 d'acétone, puis dans 25 cm^3 d'huile, et nous faisons absorber 1 cm^3 (ou 0,5 cm^3 suivant les jours) du mélange, équivalent à 20 mg par cobaye, toujours avec le compte-gouttes.

Mieux que des discours, le tableau suivant rendra compte du détail des doses reçues par les animaux.

TABLEAU I

DOSES DE 2-AAF DONNEES A CHAQUE COBAYE EN 1959

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES (*en milligrammes*) :

Dates	Mâles : Cage I				Femelles : Cage II					Mâles : Cage III					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
15 avril. . .					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	*Per os*
16 avril. . .					8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
17 avril. . .					8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
18 avril. . .					8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
20 avril. . .					8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
21 avril. .					20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
22 avril. . .					10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
23 avril. . .					20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
24 avril. . .					10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
25 avril. .	23	23	23		23	23	23			23					
26 avril. .								23	23		23	23			
5 mai. . .	23	23	23		23	23	23	23	23	23	23	23			
12 mai. . .	23	23	23		23	23	23	23	23	23	23	23			
21 mai. . .	50	50	50		50	50	50	50	50	50	50	50			
28 mai. . .	50	50	50		50	50	50	50	50	50	50	50			
TOTAL. . . .	169	169	169	0	262	262	262	262	262	262	262	262	93	93	
	sous-cutanées							intrapéritonéales							

RESULTATS

Comment parler de résultats pour une durée d'expérimentation si courte, alors que le Cobaye est résistant et que le cancer met parfois des années à se déclarer. Nos animaux ont reçu du 2-AAF seulement pendant un mois et demi, pour mourir deux mois plus tard d'une carence alimentaire en vitamine C.

Néanmoins, tous les cobayes ont été autopsiés avec soin. et il a été fait des examens macroscopiques et microscopiques minutieux, en particulier au niveau du poumon ; nous verrons aussi attentivement les variations globulaires sanguines. En effet, LOMBARD, en 1960, fait remarquer que les rares tumeurs du Cobaye se situent au poumon, ou bien consistent en une leucémie ou une lymphadénie ; aucun cas n'est signalé au tube digestif ou à l'appareil génital. Il cite, d'après FISHER : sur 120 cobayes atteints de pneumonie interstitielle, 18 ont des adénomes pulmonaires, 17 des adénocarcinomes pulmonaires, et 15 avec végétations épithéliales alvéolaires métaplasiques. Il conclut que la prolifération de l'épithélium alvéolaire semble en rapport avec les phénomènes inflammatoires.

L'autopsie détaillée et l'examen microscopique complémentaire des organes de chaque animal, ont révélé :

— Cobaye n° 1 : mort le 18 août 1959.

Surcharge graisseuse du foie, congestion moyenne de la médullo-surrénale et du poumon, congestion intense du rein et de la rate.

— Cobaye n° 2 : mort le 5 septembre 1959.

Forte surcharge graisseuse du foie, cirrhose lobulée des lobes droit et moyen droit, congestion de la médullo-surrénale.

— Cobaye n° 3 : mort le 21 août 1959.

Congestion intense de la rate, du poumon, du rein (surtout en région corticale), du foie et de la médullo-surrénale ; celle-ci se trouve également réduite à un trait.

— Cobaye n° 4 : mort le 9 août 1959. Témoin.

La surrénale accuse une légère dissociation cellulaire. Le reste est normal.

— Cobaye n° 5 : mort le 17 août 1959.

Surcharge ferrugineuse accusée de la rate. Le rein est tubéreux et présente des lésions de glomérulite chronique. Alvéolite épithéliale au poumon. Surcharge graisseuse intense du foie, avec dépressions en surface ; bouleversement de l'architecture, atrophie et disparition des cellules hépatiques.

— Cobaye n° 6 : mort le 11 août 1959.

Emphysème du poumon et lyse cellulaire du cortex surrénal.

— Cobaye n° 7 : mort le 25 août 1959.

Forte surcharge graisseuse du foie. Glomérulite chronique du rein et congestion très nette ; congestion aussi au poumon avec une alvéolite épithéliale. Congestion intense de la rate et infiltration lymphoïde diffuse. Le tissu de la médullo-surrénale singe le tissu conjonctif (grande cavité claire à l'intérieur des cellules) ; sécrétion intense et congestion médullaire.

— Cobaye n° 8 : mort le 17 août 1959.

Congestion du rein et glomérulite chronique. Pneumonie chronique. Aspect lobulé et surcharge graisseuse du foie. Dissociation cellulaire de la surrénale.

— Cobaye n° 9 : mort le 10 août 1959.

Pneumonie chronique. Rein tubéreux avec nécrose massive des épithéliums. Splénomégalie. Lyse du foie et de la surrénale.

— Cobaye n° 10 : mort le 15 août 1959.

Glomérulite chronique et congestion du rein. Pneumonie chronique. Foie lobulé à gauche et ramolli. Vacuolisation de la surrénale et dissociation cellulaire.

— Cobaye n° 11 : mort le 23 août 1959.

Glomérulite chronique et forte congestion du rein. Congestion du poumon avec hémorragies partielles, épaississement des parois alvéolaires, plages de pneumonie chronique, *réactions adénomateuses alvéolaires* en quelques points. Au foie, surcharge graisseuse partielle péri-lobulaire. Dissociation et nécrose des cellules, congestion accusée.

Congestion de la médullo-surrénale ; vacuolisation et lyse des cellules de la couche fasciculée corticale.

— Cobaye n° 12 : mort le 23 août 1959.

Congestion du poumon, alvéolite catarrhale en un point. Rein congestionné.

— Cobaye n° 13 : mort le 31 août 1959.

Congestion intense du rein, du poumon et de la médullo-surrénale. Mouvement de cirrhose et dégénérescence graisseuse au foie.

— Cobaye n° 14 : mort le 21 août 1959.

Œdème du poumon en un point. Surcharge graisseuse partielle du foie. Congestion de la médullo-surrénale et du rein.

Sur tous les sujets, nous avons noté une baisse de poids à la fin des expériences, et une maigreur assez nette à l'autopsie. Ceci est dû à la carence vitaminique C, cause de leur mort.

Discussion

Du compte rendu des lésions, il émerge peu de tumeurs, on se serait d'ailleurs douté du résultat puisque Urquhart, ayant traité ses cobayes pendant plus de deux ans, n'a jamais rien obtenu.

Néanmoins, nous mettons le doigt sur la forte congestion observée au niveau du poumon, du rein et de la médullo-surrénale, sans pouvoir toutefois en donner une explication valable. Il est quand même bizarre de les observer sur la plupart des animaux, alors que le traitement cancérigène était déjà arrêté depuis plus de deux mois.

La surcharge graisseuse du foie peut s'expliquer par les attaques toxiques successives du 2-AAF, même sur les cobayes n'ayant subi que des injections parentérales ; la nourriture semi-synthétique ne peut être accusée formellement de cette anomalie, puisque le témoin nourri de la même façon est le seul dont le foie soit resté vraiment intact. Les lésions sont évidemment les plus importantes sur les animaux ayant subi à la fois le traitement oral et les injections.

Quant au cobaye n° 11, l'épaississement des parois alvéolaires du poumon avec réactions adénomateuses en quelques points nous permet d'entrevoir peut-être le départ d'un adénome pulmonaire, permettant de cacher tous les échecs précédents du 2-AAF sur le Cobaye. Mais il n'y en a qu'un sur quatorze et il est difficile d'affirmer catégoriquement la victoire du cancérigène.

DEUXIEME
SERIE D'EXPERIENCES 1959-1960

A la suite de la mort subite de tous nos cobayes, lors de l'été 1959, il nous a fallu, dès la rentrée, recommencer sur d'autres lots, que nous avons répartis de la sorte dans deux cages :

— Cage I : six femelles numérotées de 1 à 6 ;

— Cage II : six mâles numérotés de 7 à 12.

Dans chaque cage, un témoin (les n^{os} 6 et 12) vivant dans les mêmes conditions que les autres, sans subir de traitement cancérigène.

Alimentation

Il a été institué, pour ces lots, un régime stock, c'est-à-dire à base de denrées naturelles. Les cobayes recevaient *à volonté* du foin et des graines d'avoine. De temps à autre, quelques feuilles de salade ou des carottes étaient distribués pour éviter une carence vitaminique possible.

L'inconvénient de cette méthode est que nous ignorons la dose exacte de nourriture ingérée journellement par chaque cobaye, ainsi que la composition de cette ration.

Néanmoins, le résultat en est une survie bien meilleure, et une croissance normale, puisque certains cobayes ont presque doublé leur poids en un an. Il n'y a donc pas de comparaison possible avec le régime semi-synthétique.

Technique

Aucune administration orale n'a été faite cette fois ; nous nous sommes contentés de pratiquer des injections avec une solution de 2-AAF à 5 pour 100 dans de l'huile d'arachide :

— en intrapéritonéales aux femelles de la cage I, sauf au n° 6 ;

— en sous-cutanées aux mâles de la cage II, sauf au n° 12.

La technique de préparation de la solution est toujours la même : 1 g de 2-AAF pour 20 cm^3 d'huile que l'on triture dans un mortier.

Chaque injection est de 0,5 cm^3 du mélange et contient 5 cg (ou 50 mg) de produit actif pur.

Le rythme des injections a été hebdomadaire, les dates sont les suivantes :

— en 1959 : 5, 13, 19 et 27 novembre,
3, 10, 17, 24 et 31 décembre.

— en 1960 : 7, 14, 21 et 28 janvier,
4, 11, 18 et 25 février,
3, 10, 17, 24 et 31 mars,
28 avril,
5, 12, 19 et 25 mai,
2, 10 et 17 juin.

Il y a donc eu trente injections qui s'étendent sur sept mois et demi. Chacune contenant 5 cg de 2-AAF, la dose totale par animal est de 150 cg, ou 1,5 g, ce qui représente une dose énorme de cancérigène pour un cobaye.

Lors des injections, on eut à déplorer, le 7 janvier 1960, la mort de la femelle n° 5, par piqûre du foie et hémorragie interne. L'autopsie révéla évidemment un hémopéritoine, mais aussi un point de pneumonie chronique et de la surcharge graisseuse centro-lobulaire. Le reste du cadavre était normal et en bon état. Ce cobaye n'a donc reçu que 50 cg de 2-AAF en tout (dix injections réparties sur deux mois).

Résultats

Les animaux n'ont pas été sacrifiés, car les expériences doivent continuer et faire l'objet d'une thèse ultérieure.

Nous ne pouvons donc rendre compte d'une tumeur interne éventuelle ; extérieurement, les cobayes n'ont aucun signe de cancer, et ils sont aussi vifs qu'au début. Pour avoir, néanmoins, une idée sur un changement possible, nous avons étudié les variations du nombre des globules sanguins dont nous rendons compte ci-après.

Globules sanguins

Nous avons étudié avec soin leurs variations après l'expérimentation, toujours d'après les constatations faites par LOMBARD, et FISHER, chez les cobayes les révélant parfois sujets aux leucémies. Nous pensons avoir éliminé au maximum les causes d'erreur en nous servant, tout d'abord, d'un compte-globules électronique très précis, puis en multipliant les mesures pour en prendre les chiffres moyens. Ce sont ces chiffres que nous reportons dans les tableaux suivants.

Lors de nos expériences sur les premiers lots, nous n'avons pu, à cause de leur mort subite, lors des vacances 1959, recueillir de leur sang ; une étude de leur variation globulaire est donc impossible, ne possédant que les chiffres initiaux. Nous nous contenterons donc d'étudier ceux du deuxième lot, beaucoup plus significatifs.

Tableau II

DEUXIEME EXPERIMENTATION : 1959-1960

Avant les expériences					*Après les expériences*				
Date	Poids	N° et Sexe	Glob. blancs	Glob. rouges	Date	Poids	N° et Sexe	Glob. blancs	Glob. rouges
28/10	630 g	1 - F	13.280	4.928.840	13/10	1.100 g	1 - F	impossible	3.697.360
28/10	560 g	2 - F	14.220	6.008.240	13/10	1.080 g	2 - F	11.350	4.399.600
27/10	700 g	3 - F	9.340	3.692.080	13/10	1.110 g	3 - F	13.335	2.279.760
5/11	625 g	4 - F	14.987	5.091.520	13/10	1.000 g	4 - F	7.145	3.622.080
5/11	647 g	5 - F	7.385	4.786.280	Mort le 7 janvier 1960				
27/10	490 g	6 - F	13.487	7.072.520	13/10	850 g	6 - F	13.320	6.995.450
5/11	610 g	7 - M	16.430	2.390.680	13/10	790 g	7 - M	10.845	2.152.360
27/10	605 g	8 - M	impossible		3/10	1.020 g	8 - M	14.930	4.168.640
10/11	670 g	9 - M	7.935	2.968.280	3/10	850 g	9 - M	5.905	3.957.240
29/10	690 g	10 - M	9.013	4.846.240	13/10	960 g	10 - M	6.610	3.327.360
30/10	505 g	11 - M	10.397	4.558.680	13/10	920 g	11 - M	6.347	impossible
8/10	610 g	12 - M	10.294	4.850.234	13/10	790 g	12 - M	9.805	4.602.850

Le « 56 » femelle et le « 66 » mâle sont les deux témoins.

Les premiers résultats ont été établis en septembre 1959 (avant toute injection), les cobayes sont encore normaux ; la moyenne des globules rouges est alors de 4.535.000, et celle des globules blancs de 11.650. Les seconds résultats datent de septembre 1960 (trois mois après la fin du traitement), la moyenne des globules rouges n'est plus que de 3.800.000, et celle des blancs est tombée à 9.350. A quoi attribuer cette baisse *simultanée* des différents globules, alors que, dans le même temps, nous remarquons un accroissement de poids très net ? Cette anémie globale se trouve précisée encore mieux sur les cobayes n^{os} 1, 2, 4, 10 et 11. Les deux témoins n^{os} 6 et 12 n'ont évidemment pas varié. Par contre, les cobayes n^{os} 3 et 9 ont certains globules qui augmentent alors que les autres diminuent ; ce sont néanmoins les deux exceptions.

Le nombre d'expériences est faible, mais elles suffisent à dire que le 2-AAF a un effet assez prononcé sur le sang, en arrivant à perturber le nombre des globules, aussi bien rouges que blancs.

CONCLUSION

C'est au lecteur qu'il appartiendra de dire, en résumé, si notre travail mérite une conclusion favorable ou non.

Pour nous, le seul fait d'avoir réussi à obtenir, chez le Cobaye, animal si résistant à toutes ces méthodes (ROGER et BLUMENTHAL le font aussi remarquer en 1960), *pour la première fois,* des modifications sensibles (sans parler encore de tumeurs), nous permet de regarder en arrière avec le sentiment de n'avoir pas expérimenté dans le vide.

Notre récompense la plus grande est de pouvoir dire que le Cobaye a peut-être eu sa cancéro-résistance chimique vaincue au moins une fois. Ce résultat nous comblerait s'il n'y avait pas qu'un seul animal atteint sur tout le lot.

Loin d'avoir épuisé ce chapitre, nous espérons quand même avoir entr'ouvert une des nombreuses portes séparant les chercheurs de la vraie réussite. Le jour où nous aurons trouvé les *raisons* de la résistance de ce curieux petit animal, nous pourrons alors appliquer ces connaissances à une cause plus noble et plus urgente, qui est la prophylaxie, voire le traitement du cancer chez l'Homme. Beaucoup reste à faire.

Pour le moment, nous nous contentons de tirer, sur cette thèse, un rideau malheureusement plus pessimiste.

Vu :
Le Professeur de l'Ecole
Vétérinaire, Rapporteur,
Ch. LOMBARD.

Vu :
Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire,
P. PONS.

Vu :
Le Président de la Thèse,
J. FABRE.

Vu : Le Doyen.
LAZORTHES.

N° 47

Vu et permis d'imprimer :

Toulouse, le 10 Janvier 1961.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
DOTTIN.

BIBLIOGRAPHIE

BIELSCHOWSKY (F.). — Distant Tumors Produced by 2-AF and 2-AAF. — *Brit. J. Exptl. Pathol.*, 1944, t. 25, pp. 90-95.

BIELSCHOWSKY (F.). — A Metabolite of 2-Acetamidofluorene. — *Biochem. J.*, 1945, t. 39, pp. 287-289.

BIELSCHOWSKY (F.). — *Ann. Rept. Brit. Emp., Cancer Camp.*, 1956, n° 34, p. 372.

BOYLAND (E.). — *Bioch. Soc. Symposia* (Cambridge, England), 1950, n° 5, pp. 40-54.

CANTAROW (A.), PASCHKIS (K.-E.), STASNEY (J.) et ROTHENBERG (M.-S.). — *Cancer Research*, 1946, n° 6, pp. 610-616.

CRILE (G.). — *J. Natl. Cancer Inst.*, 1958, n° 20, pp. 229-243.

DUNNING (W.-F.) et CURTIS (M.-R.). — *Proc. Am. Assoc. Cancer Research.*, 1957, 2, pp. 197-198.

DYER (H.-M.) et MORRIS (H.-P.). — *J. Natl. Cancer Inst.*, 1956, t. 17, pp. 677-697.

FRITZ-NIGGLI (H.). — *Oncologia*, 1956, t. 9, pp. 261-268.

GUTMANN (H.-R.) et PETERS (J.-H.). — Studies on the Action of Rat Liver on 2-AAF. — *J. Biol. Chem.*, 1954, t. 211, pp. 63-74.

HADOW (A.). — In « The Physiopathology of Cancer » (F. Homburger et W.-E. Fishman, eds, Hoeber, New-York), 1953, pp. 441-551.

HEIDELBERGER (C.) et WOLDENHAUER (M.-G.). — The Interaction of Carcinogenic Hydrocarbons with Tissue Constituents. - IV. A Quantitative Study of the Binding to Skin Protein of Several C_{14}-labeled Hydrocarbons. — *Cancer Research*, 1956, 16, pp. 442-449.

HIEGER (I) et WOODHOUSE (D.-L.). — The Value of the Rabbit for Carcinogenicity Tests on Petroleum Fractions. — *Brit. J. Cancer*, 1952, 6, n° 3, pp. 293-299.

HORNING (E.-S.). — *Brit. J. Cancer*, 1950, 4, pp. 235-244.

JACOBY (F.) et WOODHOUSE (D.-L.). — *Ann. Rept. Brit. Emp. Cancer Camp.*, 1946, n° 23, p. 103.

KENNAWAY (E.-L.), TIPLER (M.-M.) et URQUHART (M.-E.). — Carcinogenic Agents and The Metabolism of Ascorbic Acid in the Guinea-Pig. — *Brit. J. Cancer*, 1955, 9, pp. 606-610.

KIRBY (A.-H.-M.). — *Brit. J. Cancer*, 1947, t. 1, pp. 68-79.

LEATHEM (J.-H.). — Plasma and Liver Protein Levels in Rats Fed the Carcinogene 2-AAF. — *Science*, 1949, t. 110, pp. 216-217.

LOMBARD (Ch.). — La Cancéro-résistance du Cobaye. — *Bulletin du Cancer*, 1960, t. 47, n° 1, pp. 167-172.

LOMBARD (Ch.). — Cancérologie Comparée. — 1960, Imprimerie Ouvrière, Toulouse.

MILLER (E.-C.) et MILLER (J.-A.). — *In vivo* Combinations between Carcinogens and Tissue Constituents, and Their Possible Role in Carcinogenesis. — *Cancer Research*, 1952, t. 12, pp. 547-556.

MILLER (E.-C.) et MILLER (J.-A.). — Biochemical Investigations on Hepatic Carcinogenesis. — *J. Natl. Cancer Inst.*, 1955, t. 15, pp. 1571-1590.

MILLER (E.-C.) et MILLER (J.-A.). — The Carcinogenic Aminoazo Dyes. — *Advances in Cancer Research*, 1953, t. 1, pp. 339-396.

MORRIS (H.-P.) et WESTFALL (B.-B.). — *J. Natl. Cancer Inst.*, 1948, t. 9, pp. 149-154.

NAGASAWA (H.-T.) et GUTMANN (H.-R.). — A Note on the Deacylation of the carcinogen 2-acetamidofluorene and Related Compounds by Rat Liver and Intestine. — *Biochim. et Biophys. Acta*, 1957, t. 25, pp. 186-189.

PASCHKIS (K.-E.), CANTAROW (A.) et STASNEY (J.). — Competitive Action of 2-Thiouracil and Uracil in AAF-induced Cancer of the Liver. — *Science*, 1951, t. 114, pp. 264-265.

PAULING (L.). — The Nature of the Chemical Bond. — 2e édition, Cornell Univ. Press, Ithaca, New-York, 1948.

ROGERS (J.-B.) et BLUMENTHAL (H.-T.). — Studies of Guinea-Pig Tumors. - I. Report of Fourteen Spontaneous Guinea-Pig Tumors, with a Review of the Literature. — *Cancer Research*, 1960, vol. 20, n° 2, pp. 191-197.

ROMBACH (L.-H.) et Mac GREGOR (I.-R.). — *J. Org. Chem.*, 1954, t. 19, pp. 428-433.

RONDONI (P.). — *La Ricerca Sci.*, 1950, t. 20, pp. 671-672.

RONDONI (P.). — Some Aspects of Carcinogenesis. — *Advances in Cancer Research*, 1955, t. 3, pp. 171-221.

SANDIN (R.-B.), MELBY (R.), HAY (A.-S.), JONES (R.-N.), MILLER (E.-C.) et MILLER (J.-A.). — Ultraviolet Sepctra and Carcinogenic Activities of Some Fluorene and Biphenyl Derivatives. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, t. 74, pp. 5073-5075.

SAWICKI (E.), CHASTAIN (B.) et BRYANT (H.). — Nitration of 2-acylaminofluorene Derivatives. — *J. Org. Chem.*, 1956, t. 21, pp. 754-756.

STRASBURGER (J.). — *Ber.*, 1884, t. 17, pp. 107-108.

TAKAHASHI (T.). — *Gann.*, 1954, t. 45, pp. 631-636.

URQUHART (M.-E.). — The Metabolism of 2-AAF in the Guinea-Pig. — *Brit. J. Cancer*, 1955, t. 9, pp. 611-612.

WEISBURGER (E.-K.) et WEISBURGER (J.-H.). — Chemistry, Carcinogenicity and Metabolism of 2-fluorenamine and Related Compounds. — *Advances in Cancer Research*, 1958, t. 5, pp. 332-431.

WILSON (R.-H.) DE EDS (F.) et COX (A.-J.). — The Toxicity and Carcinogenic Activity of 2-AAF. — *Cancer Research*, janvier, 1941, n° 1, pp. 595-608.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS. 9

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE. 11

ORIGINE. 12

Production du Fluorène puis du 2-AAF. 12

DEUXIÈME PARTIE

1) *PROPRIETES CANCERIGENES CHEZ LES ANIMAUX* 15

Modes d'administration. 15

Influence des Espèces. 16

Effets cancérigènes. 17

2) *PROPRIETES PHYSIQUES et CHIMIQUES et la CANCERISATION*. 18

Spectre d'absorption ultraviolet. 18

Dimensions moléculaires. 19

Réactions d'oxydo-réduction. 19

3) *MECANISME DE CANCERISATION*. 20

— Interaction du cancérigène et des tissus constituants 20

a) *In vivo*. 20

b) *In vitro*. 21

— Modes de combinaison possibles. 22

— Relations entre la carcinogenèse et la liaison protéine-cancérigène. 22

4) *METABOLISME du 2-AAF, CHEZ LE COBAYE*..... 25

a) Répartition de l'isotope. 26

b) Excrétion de l'isotope. 26

c) Chemin suivi dans le corps par le 2-AAF..... 27

d) Transformations subies par le 2-AAF. 28

5) *ACTIONS DU 2-AAF SUR L'HOTE*..... 31

a) Protéines. 31

b) Acides aminés. 32

c) Acides nucléiques. 32

d) Graisse et glycogène. 32

e) Vitamines. 33

f) Enzymes. 33

6) *ROLE DE L'ALIMENTATION : CHOIX du REGIME*.. 36

Régimes. 36

Influence des protéines. 37

Acides aminés. 38

Lipides. 38

Vitamines. 38

Constituants variés. 39

7) *INFLUENCE des FACTEURS HORMONAUX*. 40

Hormones stéroïdes. 40

a) Effets sur les tumeurs mammaires. 40

b) Effets sur les tumeurs du foie..... 41

Hormones thyroïdiennes. 41

Hormones hypophysaires. 42

a) Excès d'hormones. 42

b) Carence en hormones. 43

Hormones pancréatiques. 43

TROISIÈME PARTIE

EXPERIENCES PROPREMENT DITES, SUR le COBAYE. 45

Première série d'expériences 1959. 45

Méthodes de cancérisation. 46

Préparation. 47

Tableau I. 49

Résultats. 50

Discussion. 53

Deuxième série d'expériences 1959-1960..... 54

Alimentation. 54

Technique. 54

Résultats. 55

Globules sanguins. 56

Tableau II. 57

CONCLUSION. 59

BIBLIOGRAPHIE. 61